

Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr farm. Henryk Nerlo

Henryk NERLO, Anna KOSIOR

Oznaczanie cukrów w mchu torfowcu

Определение содержания сахаров в торфяном мхе

The Determination of Sugars in Peat Moss

Skład chemiczny mchu torfowca — *Sphagnum*, nie został dotychczas dokładnie poznany. W 1899 r. Czapek (2) wydzielił z tego surowca substancję fenolową, którą nazwał sfagnolem. Kurbatow (6) wykrył w mchu torfowcu sfagnol, lecz wyizolowania jego nie udało mu się przeprowadzić. Manskaja i Bardinskaja (8) wyodrębniły z błony komórkowej torfowca związki aromatyczne o budowie fenolowej: p-hydroksybenzaldehyd, wanilinę i aldehyd syringowy oraz substancję, której nie zidentyfikowały. Theander zajął się analizą węglowodanów w świeżym mchu torfowcu i zidentyfikował: galaktozę, glukozę, mannozę, arabinozę, ksylozę, ramnozę. Nie wykazał natomiast obecności fruktozy. Black, Cornhill i Woodward (1) wykryli i oznaczyli w kwaśnych hydrolizatach z torfowca galaktozę, glukozę, arabinozę i ksylozę, a w hydrolizatach wodnych ze świeżego surowca — wykazali obecność fruktozy, której nie stwierdzili w hydrolizatach sporządzonych z mchu wysuszonego. Poza tym wykryli w mchu torfowcu sterole i aminokwasy.

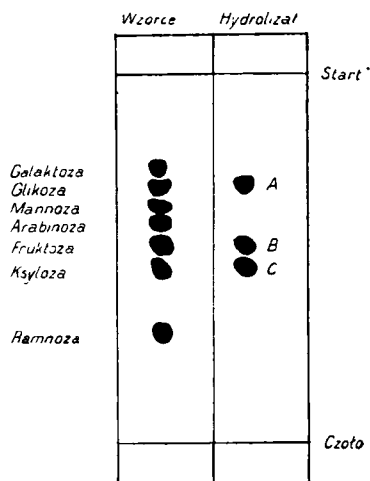
W poprzedniej pracy przeprowadziliśmy badania jakościowe i ilościowe substancji fenolowych w płynnych preparatach z mchu torfowca zbieranego w woj. lubelskim, stwierdzając obecność waniliny, aldehydu syringowego i substancji o nieznanym budowie. Celem niniejszej pracy była analiza jakościowa i ilościowa cukrów w mchu pochodzącym z tych samych stanowisk.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1,5 g świeżego mchu torfowca hydrolizowano przez 3 godz. w temp. 100°C 70 ml 1N kwasu siarkowego w zatopionej rurce szklanej (1). Hydrolizat przesączono przez porowaty, szklany lejek, zobojętniono węglanem barowym (9) i odparowano do sucha. Suchą pozostałość ekstrahowano w celu usunięcia elektrolitów — 5 ml redestylowanej pirydyny. Ekstrakt po ochłodzeniu przesączono, a pirydynę usunięto przez destylację w temperaturze nie przekraczającej 40°C (7). Pozostałość

po rozpuszczeniu w 70 ml wody i odbarwieniu przez ogrzewanie w 90°C przez 15 min. z węglem drzewnym poddano analizie chromatograficznej. W tym celu na bibułę Whatman 1 nanoszono 0,08 ml oczyszczonego hydrolizatu, a obok mieszaninę substancji wzorcowych: glikozy, galaktozy, mannozy, fruktozy, ksylozy, arabinozy i ramnozy, rozpuszczonych w wodzie. Chromatogramy rozwijano techniką splywową w temp. 18—20°C, stosując następujące układy rozpuszczalników (I): I n-butanol — pirydyna — woda — benzen (5:3:3:1) i II n-butanol — kwas octowy lodowaty — woda (10:3:3). Do wywołania chromatogramów zastosowano odczynnik benzydynamowy Taubera (4, 5), test z α -naftolem oraz reakcję z mocznikiem (9).

Zarówno po jednorazowym, jak i kilkakrotnym rozwijaniu w jednym kierunku chromatogramów z wzorcami i badanym hydrolizatem — nie uzyskano dostatecznego rozdzielania. Plamy cukrów były mało rozsunięte oraz tworzyły ciągnące się smugi, co zmusiło do wprowadzenia modyfikacji. W związku z tym chromatogramy rozwijano najpierw w układzie I, suszono na powietrzu, a następnie rozwijano w tym samym kierunku w układzie II. Metoda ta dała dobry rozdział substancji wzorcowych i badanego hydrolizatu. Na bibule z naniesionym hydrolizatem



Ryc. 1. Rozdział chromatograficzny cukrów w hydrolizacie z mchu torfowca:
A — glikoza, B — fruktoza, C — ksyloza

Chromatographic separation of sugars in hydrolyzate of peat moss: A — glucose,
B — fructose, C — xylose.

otrzymano 3 plamy. Plama o $R_f = 0,29$ znajdowała się na wysokości wzorca glukozy. Plama o $R_f = 0,47$ odpowiadała wzorcowi fruktozy, a plama o $R_f = 0,53$ wzorcowi ksylozy. Wszystkie plamy barwiły się z odczynnikiem benzydynamowym na kolor brunatny. Plama odpowiadająca wzorcowi fruktozy dawała z odczynnikiem α -naftolowym liliowe zabarwienie, a z odczynnikiem mocznikowym barwiła się na, charakterystyczny dla ketoz, kolor niebieski. Wyniki rozdzielania przedstawia ryc. 1. Analo-

gicznie przebiega rozdział cukrów w hydrolizacie sporządzonym z wysuszonego mchu torfowca.

Oznaczenia ilościowe glikozy, fruktozy i ksylozy przeprowadzono metodą kolorymetryczną (3). Dla wykreślenia krzywych wzorcowych odważono po 50 mg poszczególnych cukrów i rozpuszczono każdy oddzielnie w 100 ml odczynnika składającego się z 19 g molibdenianu amonu rozpuszczonego w 700 ml wody z dodatkiem 17 ml stężonego kwasu siarkowego i dopełnionego wodą do 1000 ml. Roztwory te przyjęto jako wzorcowe. Pomiar wykonano dla stężeń 0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 3,5 mg i 4 mg cukrów. W tym celu odmierzone 0,06 ml, 0,12 ml, 0,18 ml, 0,24 ml, 0,30 ml, 0,36 ml, 0,42 ml, 0,48 ml roztworów wzorcowych i uzupełniono je powyższym odczynnikiem do 6 ml. Otrzymane roztwory ogrzewano na wrzącej łaźni wodnej przez 15 min., a następnie chłodzono 5 min. do temp. pokojowej i oznaczano ekstynkcję w fotometrze Pulfricha stosując filtr S₆₆.

Chromatogramy rozwijano, jak poprzednio w układach I i II. Wyci-nano z nich kawałki bibuły odpowiadające pląmom na chromatogramach wywołanych, cięto je na drobne skrawki, umieszczano oddzielnie w probówkach, eluowano 6 ml odczynnika z molibdenianem amonu i postępowano jak wyżej. Ilość poszczególnych cukrów odczytywano z krzywych wzorcowych. Procentową zawartość glikozy, fruktozy i ksylozy w mchu torfowcu przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Zawartość cukrów w mchu torfowcu
Contents of sugars in peat moss

Cukier	Zawartość cukrów w % w przeliczeniu na 100g	
	świeżego surowca	suchego surowca
Glikoza	17.81	6.94
Fruktoza	7.12	2.77
Ksyloza	16.98	6.62

WYNIKI I WNIOSKI

Z mchu torfowca-*Sphagnum* sporządzano kwaśne hydrolizaty, które po zobojętnieniu i oczyszczeniu poddawano badaniom jakościowym i ilościowym:

1. Analiza chromatograficzna na bibule nie wykazała różnic w składzie substancji cukrowych w mchu świeżym i wysuszonym. Na chromatogramach otrzymano po 3 plamy, które przez porównanie z substancjami wzorcowymi i wywołanie odpowiednimi odczynnikami, zidentyfikowano jako glikozę, fruktozę i ksylozę. Nie wykryto natomiast arabinozy, galaktozy, mannozy i ramnozy.

2. Oznaczenia ilościowe cukrów przeprowadzono metodą kolorymetryczną, wykorzystując reakcję barwną tych związków z wodnym roztworem molibdenianu amonu z dodatkiem stężonego kwasu siarkowego. Stwierdzono w przeliczeniu na suchą masę surowca obecność: 6.94% glikozy, 2.77% fruktozy i 6.62% ksylozy.

PISMIENNICTWO

1. Black W. A. P., Cornhill W. J., Woodward F. N.: J. Appl. Chem. 5, 484—492, 1955.
2. Czapek T.: Flora 4, 361, 1839.
3. El-Khadem H., Girgis W.: Analyt. Chem. 33, 645, 1961.
4. Hoorocks R. H.: Nature 164, 444, 1949.
5. Hoorocks R. H., Manning G. B.: Lancet 1, 1042—1044, 1949.
6. Kurbatow J. M.: Torfianoje dieło, 17, 107, 1938.
7. Malpress F. H., Morrison A. B.: Nature 164, 963, 1949.
8. Manskaja S. M., Bardinskaja M. S.: Biochimia 19, 332—335, 1954.
9. Opieńska-Blauth J., Waksmundzki A., Kański M.: Chromatografia, PWN, Warszawa 1957, 586—587, 593, 594.

Otrzymano 2 X 1968.

РЕЗЮМЕ

Из торфяного мха *Sphagnum* были изготовлены кислые гидролизаты, которые после нейтрализации очищались и подвергались хроматографическому анализу на бумаге Ватман 1. Хроматограммы развивались струительной техникой по системе: *n*-бутанол—пиридин—вода—бензол (5:3:3:1), сушились на воздухе, после чего развивались в том же направлении по системе *n*-бутанол—ледяная уксусная кислота—вода (10:3:3). Как в сухом, так и в свежем мхе было обнаружено присутствие гликозы, фруктозы и ксилозы. Количественное определение сахаров проводилось колориметрическим методом, используя цветную реакцию этих соединений с водным раствором молибдата аммония с добавкой концентрированной сернистой кислоты. Установлено присутствие (в перечислении на сухую массу сырья) 6,94% гликозы, 2,77% фруктозы и 6,62% ксилозы.

SUMMARY

Acid hydrolysates were obtained from *Sphagnum*. Neutral and purified hydrolysates were analysed on Whatman 1 chromatographic paper.

Chromatograms were developed with the solvent: n-butanol-pyridine-water-benzene (5:3:3:1) by the descending technique. Next they were dried in air and developed again with the solvent: n-butanol-glacial acetic acid-water (10:3:3). Fresh and dry peat moss was found to contain glucose, fructose and xylose.

The quantitative determination of sugars was performed by the colorimetric method, using colour reaction of these compounds with ammonium molybdate in sulfurous acid solution. Dry material contained 6.94% glucose, 2.77% fructose and 6.62% xylose.

